

**PENAMBAHAN *Ulva reticulata* SEBAGAI PERANGSANG DALAM PAKAN BUATAN TERHADAP KONDISI GONAD BULU BABI KOLEKTOR (*Tripneustes gratilla* LINNAEUS 1758)**

***THE ADDITION OF Ulva reticulata AS A STIMULANT INTO ARTIFICIAL FEED ON THE GONAD CONDITION OF THE COLLECTOR SEA URCHIN (Tripneustes gratilla LINNAEUS 1758)***

**Wahyu Purbiantoro<sup>1\*</sup>, Nur Bambang Priyo Utomo<sup>2</sup>, dan Oman Agus Sudrajat<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Pusat Penelitian Laut Dalam (P2LD), LIPI, Ambon

\*Email: wahyu.purbiantoro@gmail.com

<sup>2</sup>Departemen Budidaya Perairan, FPIK, IPB, Bogor

**ABSTRACT**

Dried *Ulva reticulata* has been proven as a feeding stimulant for the collector sea urchins (*Tripneustes gratilla*). The purposes of this study were to determine the optimal dose of dried *U. reticulata* as a feeding stimulant into artificial feed and its effect on the gonad condition of the collector sea urchins, *T. gratilla*. Previously, starved sea urchins (ca. 66 mm diameter, n=7) was held in 80-l aquarium volume with flow through seawater system (6.25 l/hour inlet and outlet). Sea urchins were fed with diet containing 0, 10, 20, or 30% of dried *U. reticulata* (designated control, U-10, U-20, and U-30 respectively) *ad libitum* for 38 days. Each treatment was given 3 replicates. Survival rate, feed consumption, and gonad conditions (gonad index, biochemical composition of the gonad, gonad histology, and egg diameter) parameters were quantified and compared to sea urchins fed with the mixture of fresh macroalgae (*Gracilaria lichenoides* and *Padina*) and seagrass (*Enhalus acoroides*). The results showed that the addition of dried *U. reticulata* into artificial feed by 10% from feed weight (U-10) was the optimal dose recommended. Sea urchins treated U - 10 diet resulted in gonad index and egg diameter (5.02 % and 82.66  $\mu$ m each), were higher than other diet treatments. However, this diet treatment was not able to homogenize the reproductive phase composition of *T. gratilla*.

**Keywords:** *Ulva reticulata*, Feeding Stimulant, *Tripneustes gratilla*, Gonad Condition

**ABSTRAK**

*Ulva reticulata* kering telah terbukti sebagai perangsang pakan untuk bulu babi kolektor (*Tripneustes gratilla*). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan dosis optimal *U. reticulata* kering sebagai perangsang dalam pakan buatan dan pengaruhnya terhadap kondisi gonad *T. gratilla*. Sebelumnya, bulu babi (diameter 66 mm, n=7) yang telah dipuasakan dipelihara dalam akuarium volume 80-l dengan sistem air laut mengalir (debit air masuk dan keluar 6,25 l/jam). Bulu babi diberi diet salah satu pakan yang mengandung 0, 10, 20 atau 30% *U. reticulata* kering (kontrol, U-10, U-20, dan U-30) secara *ad libitum* selama 38 hari. Setiap perlakuan diberi 3 ulangan. Parameter kelangsungan hidup, tingkat konsumsi pakan dan kondisi gonad (indeks gonad, komposisi biokimia gonad, gambaran histologi gonad dan diameter telur) diukur dan dibandingkan dengan bulu babi yang diberi pakan campuran segar makroalga (*Gracilaria lichenoides* dan *Padina*) dan lamun (*Enhalus acoroides*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan *U. reticulata* kering ke dalam pakan buatan sebesar 10% dari bobot pakan (U-10) merupakan dosis optimal yang direkomendasikan. Bulu babi yang diberi perlakuan diet U-10 menghasilkan indeks gonad dan diameter telur (masing-masing 5,02% dan 82,66  $\mu$ m), lebih besar apabila dibandingkan dengan perlakuan diet lainnya. Walaupun perlakuan diet ini belum mampu menyeragamkan komposisi fase reproduktif *T. gratilla*.

**Kata kunci:** *Ulva reticulata*, Perangsang Pakan, *Tripneustes gratilla*, Kondisi Gonad

## I. PENDAHULUAN

Gonad bulu babi (*roe*) sebagai produk perikanan telah menjadi komoditi penting di berbagai negara (Keesing and Hall, 1998). Namun sejak puncak produksi pada tahun 1995, produksi global perikanan bulu babi terus mengalami penurunan. Di sisi lain permintaan terhadap produk bulu babi selalu ada bahkan terus meningkat (Andrew *et al.*, 2002). Kondisi ini menciptakan peluang bagi kegiatan akuakultur bulu babi, terutama di negara-negara yang selama ini masih mengandalkan hasil tangkapan bulu babi dari alam untuk memenuhi permintaan ekspor.

Di Indonesia, potensi bulu babi belum optimal dikembangkan. Angka statistik menunjukkan kuantitas ekspor bulu babi hidup ke Jepang kurang dari 0,5 metrik ton per tahun (JFTA, 2003 in Sonu, 2003). Bulu babi kolektor (*Tripneustes gratilla* Linnaeus 1758) merupakan bulu babi tropis yang memiliki nilai komersial tinggi. Di Indonesia biota ini tersebar di Kawasan Tengah dan Timur Indonesia seperti Bali, Nusa Tenggara, Sulawesi dan Maluku terutama di ekosistem lamun (Aziz, 1993). Biota ini memiliki tingkat pertumbuhan yang cepat (Dworjanyn *et al.*, 2007), warna gonadnya memenuhi selera pasar, berwarna kuning cerah sampai oranye dengan tekstur halus sampai kasar (berbutir) (Chasanah dan Andamari, 1997) dan induk matang gonad tersedia di alam cukup lama, sehingga keperluan induk siap memijah bagi usaha pembenihan tidak menjadi masalah (Tuwo dan Pelu, 1997).

Pengembangan pakan buatan untuk mengurangi penggunaan pakan alami sekaligus untuk meningkatkan pertumbuhan somatik dan kualitas gonad merupakan salah satu fokus penelitian dalam kegiatan akuakultur bulu babi (Agatsuma *et al.*, 2010; Barker, 2010; Kelly and Chamberlain, 2010). Ukuran

gonad yang besar, mengandung sedikit atau tanpa gamet, tekstur yang teguh dan memiliki warna kuning cerah atau oranye merupakan karakteristik gonad berkualitas yang ditujukan untuk konsumsi (Robinson *et al.*, 2002; Shpigel *et al.*, 2004). Sementara karakteristik gonad untuk tujuan pembenihan terutama dibutuhkan gonad yang mengandung banyak gamet.

Salah satu kendala penggunaan pakan buatan bagi bulu babi adalah tingkat konsumsi pakan buatan yang lebih rendah dibandingkan pakan alami (Lawrence *et al.*, 1997; McBride *et al.*, 1997). Proses penelanan makanan merupakan aspek penting dari nutrisi. Jumlah dan frekuensi konsumsi oleh bulu babi salah satunya dipengaruhi oleh karakteristik fisik dan kimia dari makanan. Seekor binatang mungkin tertarik (*attractant*) untuk makan tetapi tidak dirangsang untuk memakannya dan binatang mungkin terdorong (*incitant*) untuk makan tetapi kemudian menghindarinya (*deterrent*) (Lindsteadt, 1971). Tahap-tahap ini tidak selalu secara eksplisit diakui dalam studi mengenai pemberian makan terhadap bulu babi. Klinger and Lawrence (1984) menyakini perbedaan konsumsi oleh bulu babi hijau (*Lytechinus variegatus*) terutama ditentukan oleh ketekunan dalam makan bukan pemilihan makanan. Ketekunan bulu babi saat kontak dengan makanan menunjukkan stimulasi makan.

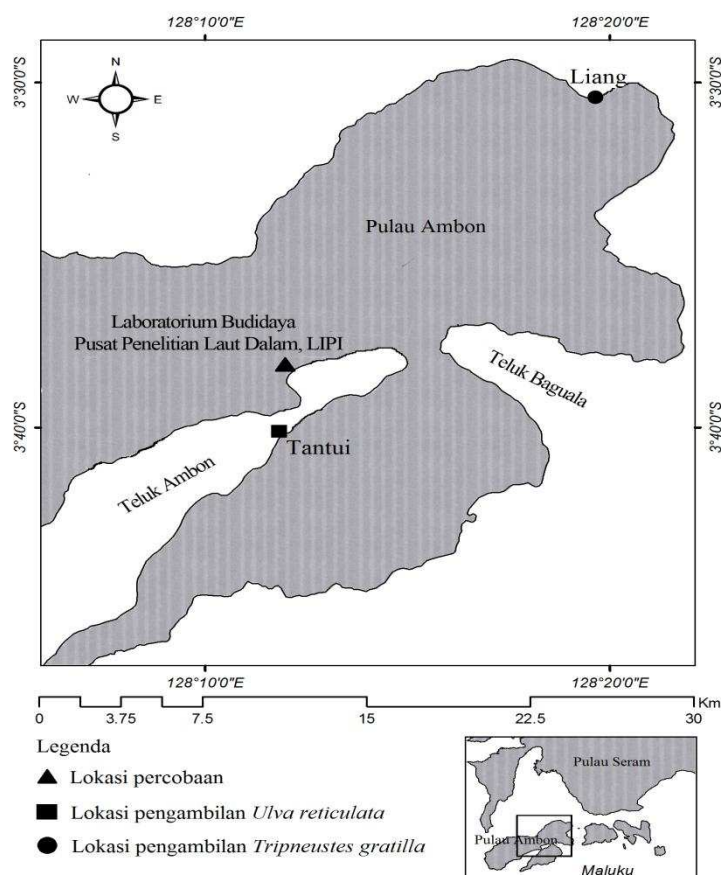
Konsumsi bulu babi terhadap pakan buatan dapat ditingkatkan melalui penambahan perangsang (*stimulant*) ke dalam pakan buatan untuk memperbaiki palatabilitas atau kesedapan pakan (McClintock *et al.*, 1982; Klinger and Lawrence, 1984; Sakata *et al.*, 1989). Dworjanyn *et al.* (2007) melaporkan penambahan *Sargassum linearifolium* kering ke dalam diet formulasi dapat bertindak sebagai perangsang pakan bagi juvenil *T. gratilla*. Adapun Cyrus *et al.* (2012) menunjukkan bahwa penambahan

*Ulva* spp. (predominan *U. rigida*) kering sebesar 20% dari berat pakan dapat menghasilkan gonad *T. gratilla* yang diterima oleh pasar, dari sisi ukuran dan warna gonad. Sementara, penelitian yang dilakukan Purbiantoro *et al.* (*in press*) menunjukkan bahwa penambahan *U. reticulata* kering sebesar 5% dari berat pakan mampu bertindak sebagai perangsang pakan ketika ditambahkan pada pakan buatan untuk *T. gratilla* dewasa. Namun demikian, penelitian tersebut belum menggambarkan penggunaan dosis optimal *U. reticulata* kering sebagai perangsang pakan dan pengaruhnya terhadap kondisi gonad. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan dosis optimal *U. reticulata* kering sebagai perangsang pakan dan pengaruhnya terhadap kondisi gonad *T. gratilla*.

## II. METODE PENELITIAN

### 2.1. Pengumpulan dan Preparasi *Ulva reticulata*

Alga hijau *Ulva reticulata* dikumpulkan dari pantai Tantui (S 03°40'09,1", E 128°11'46,0"; Gambar 1) saat berlimpah (*blooming*). Selanjutnya *U. reticulata* segar dibawa ke Laboratorium Budidaya, Pusat Penelitian Laut Dalam (P2LD), LIPI, Ambon dalam bak plastik berisi air laut. Setibanya di laboratorium, *U. reticulata* dicuci menggunakan air laut dan dikering-anginkan di atas rak bambu yang diberi naungan sampai kristal garam pada thalus muncul. Kemudian *U. reticulata* kembali dicuci dengan menggunakan air tawar dan dikering-anginkan kembali selama 5 hari. Setelah kering *U. reticulata* dihancurkan



Gambar 1. Peta lokasi penelitian.

dengan alat pelumat (*blender*), dan kemudian dilewatkan pada saringan berpori 3 mm. *U. reticulata* kering dengan kadar air 10-12% disimpan dalam kontainer kedap udara yang dilengkapi gel silika selama sekitar 6 bulan hingga digunakan untuk penelitian.

## 2.2. Pengumpulan dan Pemeliharaan *Tripneustes gratilla*

Bulu babi kolektor (*Tripneustes gratilla*) dikumpulkan dari pantai Liang, Kabupaten Maluku Tengah pada kedalaman 0,3-3 m (S 03°48'76,7", E 128°25'36,5"; Gambar 1). Sebelum digunakan bulu babi diadaptasikan selama 14 hari pada bak pemeliharaan dengan air laut mengalir, diaerasi, serta diberi pakan berupa campuran makroalga segar (*Gracilaria lichenoides* dan *Padina*) secara *ad libitum*. Setelah diadaptasikan bulu babi dipuasakan selama 21 hari untuk mempermudah evaluasi penggunaan protein. Kemudian dipelihara dalam bak fiber (volume 2 m<sup>3</sup>) dengan sistem air laut mengalir (debit air masuk dan keluar sebesar 6,25 L/jam) sebelum dipindahkan ke dalam wadah percobaan.

## 2.3. Formulasi Pakan Buatan

Kandungan proksimat bahan dasar pakan buatan dievaluasi sebagai dasar untuk memformulasikan pakan perlakuan. Analisis kadar protein menggunakan metode Kjeldahl, sedangkan analisis kadar lipid menggunakan metode Soxhlet (pelarut n-heksana) (AOAC, 1980). Komposisi pakan dasar (Kontrol) merupakan modifikasi formulasi pakan yang memberikan efek negatif terhadap palatabilitas bulu babi (Fernandez and Boudouresque, 2000). Pakan buatan yang digunakan dalam percobaan mengandung 56% bahan dasar yang dicampur ke dalam 12,5% larutan pengikat. Gelatin yang terbuat dari kulit sapi (kadar protein

88,28%) digunakan sebagai bahan pengikat untuk memperoleh konsistensi pakan yang kuat namun lembut (Robinson *et al.*, 2002). Komposisi nutrisi pakan buatan dinyatakan sebagai persentase (bobot basah, bb) dan tingkat energi dinyatakan dalam kkal/kg bb. Formulasi pakan buatan untuk setiap jenis perlakuan ditunjukkan pada Tabel 1.

## 2.4. Prosedur Pengujian dan Parameter yang Diukur

Individu *T. gratilla* yang telah dipuasakan diseleksi berdasarkan bobot utuh dan diameter cangkang, selanjutnya diuji dengan lima jenis perlakuan diet (Tabel 2). Setiap perlakuan diet diujikan sebagai pakan tunggal sebanyak tiga ulangan. Pakan diberikan satu kali sehari menjelang matahari terbenam selama 24 hari pertama, berikutnya sampai hari ke-38 pakan diberikan dua kali sehari menjelang matahari terbit dan terbenam. Selama pengujian berlangsung, bulu babi dipelihara pada kepadatan 1 individu per 10 L air laut ( $n=7$  individu) dalam wadah percobaan berukuran 60 x 40 x 40 cm<sup>3</sup> yang dilengkapi sistem air laut mengalir (debit air masuk dan keluar sebesar 6,25 L/jam). Parameter utama yang diukur meliputi kelangsungan hidup, tingkat konsumsi pakan, konsistensi pakan, kondisi gonad (indeks gonad, komposisi biokimia gonad, fase reproduktif dan diameter telur; Tabel 3). Kondisi gonad (kecuali diameter telur) selain dibandingkan antar perlakuan diet, juga dibandingkan dengan kondisi gonad bulu babi yang ditangkap dari alam. Parameter kualitas air yang diukur meliputi suhu, salinitas, pH dan oksigen terlarut (Horiba tipe U52G, USA). Sementara, total amonia nitrogen (TAN) diukur menggunakan spektrofotometer ( $\lambda=630$  nm) berdasarkan metode phenol hypochlorite (Solorzano, 1969).

Tabel 1. Formulasi pakan buatan yang digunakan dalam percobaan.

Bahan dasar	Protein (%)	Komposisi bahan dasar dalam perlakuan <sup>1</sup> (%)			
		Kontrol	U-10	U-20	U-30
Tepung ikan	54.17	55,22	55,46	55,72	55,96
Tepung jagung	9.38	17,04	11,92	6,79	1,67
Tepung pollar	13.46	17,04	11,92	6,79	1,67
<i>U. reticulata</i>	10.38	0,00	10,00	20,00	30,00
Minyak ikan	0,00	4,50	4,50	4,50	4,50
Minyak sawit	0,00	4,50	4,50	4,50	4,50
Filler, vitamin dan mineral mix <sup>2</sup>	3.49	1,70	1,70	1,70	1,70
Analisis proksimat pakan <sup>3</sup>					
Kadar protein		31,77	31,69	31,91	31,81
Kadar lemak		9,80	8,86	9,20	9,12
Serat kasar		0,88	1,49	2,03	2,08
BETN		18,55	18,84	16,96	16,92
Kadar abu		6,06	6,69	7,82	7,98
Energi kasar <sup>4</sup>		3460.87	3379.92	3347.12	3332.36
GE/P		10.89	10.67	10.49	10.48

<sup>1</sup>Empat jenis perlakuan diet, yaitu Kontrol= pakan dasar, U-10= Kontrol + *U. reticulata* 10%, U-20= Kontrol + *U. reticulata* 20%, U-30= Kontrol + *U. reticulata* 30%.

<sup>2</sup>Vitamin dan mineral mix tersusun atas (mg atau UI per kg terhadap pakan): tocopherol acetate 70,8 UI; ascorbic acid 283 mg; thiamin 7,1 mg; riboflavin 7,6 mg; pyridoxine 9,4 mg; cyanobalanine 0,014 mg; biotin 0,47 mg; folic acid 1,89 mg; calcium panthothenate 23,6 mg; vitamin A 710 UI, vitamin D<sub>3</sub> 700 UI; niacin 14,6 mg; CaCO<sub>3</sub> 2,1 mg; CuSO<sub>4</sub> 9,4 mg; Fe SO<sub>4</sub> 4,7 mg; NaF 7,1 mg; Mg CO<sub>3</sub> 174 mg; Mn SO<sub>4</sub> 18,9 mg; CaHPO<sub>4</sub> 75,5 mg; Zn SO<sub>4</sub> 7,7 mg.

<sup>4</sup>Hasil analisis proksimat, Laboratorium Nutrisi Ikan Departemen BDP, FPIK, IPB.

<sup>3</sup>Perhitungan manual, protein: 5,6 kkal/g; lemak 9,4 kkal/g; karbohidrat 4,1 kkal/g (NRC, 1977).

Tabel 2. Bobot utuh (BU) dan diameter cangkang (DC) *Tripneustes gratilla* dari lima jenis perlakuan diet ( $n=21$  individu/perlakuan).

	Perlakuan diet				
	Kontrol	U-10	U-20	U-30	MS*
BU (g)	112,38±1,77	113,76±0,84	113,37±0,49	114,79±1,02	113,49±0,66
DC (mm)	66,27±1,76	67,23±0,10	66,48±0,31	67,17±0,97	66,64±1,04

\*MS= Campuran makroalga segar (*Gracilaria lichenoides* dan *Padina sp.*) + lamun (*Enhalus acoroides*).

Tabel 3. Parameter utama yang diukur selama percobaan berlangsung.

Parameter	Persamaan/Metode Uji/Prosedur	Pustaka
Kelangsungan hidup (SR) (%)	$SR = (N_t/N_o) \times 100\%$ $N_o$ dan $N_t$ = jumlah individu <i>T. gratilla</i> pada awal dan akhir pemeliharaan	-
Konsumsi pakan (KP) (g berat basah ind <sup>-1</sup> hari <sup>-1</sup> )	$KP = (U_i \times C_f/C_i) - U_f$ $U_i$ = bobot pakan awal; $U_f$ = sisa pakan serta $C_i$ dan $C_f$ = bobot pakan kontrol sebelum dan setelah pengujian	Dworjanyn <i>et al.</i> (2007)
Konsistensi pakan	Pakan direndam dalam air laut selama 24 jam dan diamati berubah bentuknya setiap jam tanpa memperhitungkan bobot bahan kering yang hilang	-
Indeks Gonad (GI) (%)	$GI = (W_g/W_t) \times 100\%$ $W_g$ = bobot gonad (g bb) dan $W_t$ = bobot utuh (g bb). Perhitungan indeks gonad hari ke 0 mengorbankan 10 individu bulu babi	Cook and Kelly (2007)
Komposisi Biokimia Gonad		
- Kadar air (%)	Metode gavimetri	AOAC (1980)
- Protein (%)	Metode <i>Kjehdall</i>	
- Lipid (%)	Prosedur <i>Folch</i>	Folch <i>et al.</i> (1957)
Fase reproduktif		
- Preparasi histologi gonad	Penentuan jaringan, fiksasi jaringan (gonad setebal 2–3 mm <sup>3</sup> direndam dalam larutan <i>Bouin's</i> <sup>1</sup> , proses perlakuan jaringan ( <i>dehydration, clearing, impregnation, embedding</i> dan <i>blocking</i> ), pemotongan jaringan dan pewarnaan jaringan	Hewitson <i>et al.</i> (2010)
- Pengamatan fase reproduktif <sup>6</sup>	Di bagi dalam empat fase utama, yakni (I) <i>inter-gametogenesis</i> dan NP <i>phagocytosis</i> , (II) <i>pre-gametogenesis</i> dan NP <i>renewal</i> , (III) <i>gametogenesis</i> dan NP <i>utilisation</i> dan (IV) <i>end of gametogenesis, NP exhaustion</i> dan <i>spawning</i>	Walker <i>et al.</i> (2007)
Diameter Telur	Telur dikumpulkan dari gonad yang dibedah, diamati menggunakan mikroskop binokuler (perbesaran lensa 10x) dan diukur menggunakan aplikasi perangkat lunak yang terintegrasi didalamnya (Nikon 5Ei, USA)	-

## 2.5. Analisis Data

Tingkat konsumsi pakan, indeks gonad dan diameter telur diuji menggunakan *one way* ANOVA dan uji lanjut menggunakan uji *Tukey's HSD* pada derajat kepercayaan 5%. Perbedaan konsumsi pakan berdasarkan frekuensi pemberian pakan diuji menggunakan uji *t* sampel bebas (*independent sample t test*). Analisis statistik dilakukan dengan bantuan software *IBM SPSS Statistics ver. 19*.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Sintasan dan Kualitas Air




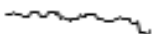
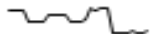
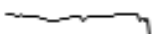
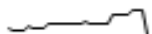


Nilai kelangsungan hidup mencapai 100% untuk semua perlakuan diet. Selama percobaan berlangsung parameter kualitas air berupa oksigen terlarut, TAN, temperatur, salinitas dan pH berada dalam kondisi baik (Tabel 4). Siikavuopio *et al.* (2007) mengemukakan kualitas air yang buruk dalam pemeliharaan bulu babi berkontribusi terhadap tingginya kematian bulu babi. Berdasarkan karakteristiknya bulu babi kolektor (*Tripneustes gratilla*) digolongkan dalam jenis ruderal (*ruderal spesies*), walaupun memiliki laju

pertumbuhan yang cepat dan upaya reproduktif yang besar, bulu babi yang tergolong dalam jenis ruderal diketahui sensitif terhadap penurunan kualitas air terutama naiknya level amonia (Lawrence, 2007). Siikavuopio *et al.* (2004) melaporkan nilai kritis TAN ( $LC_{50}$ ) *S. droebachiensis* (jenis ruderal) adalah pada  $6,48 \text{ mg L}^{-1}$ . TAN pada penelitian ini jauh lebih rendah dari batas tersebut (Tabel 4).

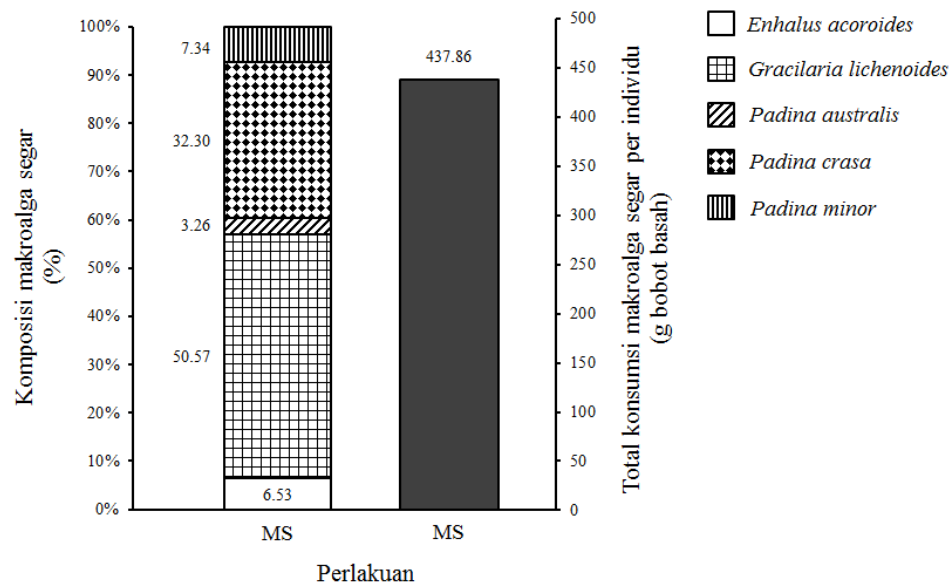
### 3.2. Konsumsi Pakan

Tingkat konsumsi *T. gratilla* terhadap campuran makroalga dan lamun segar pada percobaan ini digambarkan oleh konsumsinya terhadap perlakuan diet MS. Jumlah biomassa dari setiap jenis makroalga yang diberikan tidak sama, bergantung pada ketersediaan makroalga segar yang diperoleh dari pantai di perairan Teluk Ambon. Total makroalga segar dan lamun yang diberikan selama percobaan sebanyak 437,86 g berat basah/individu. *Gracilaria lichenoides* dan *Padina crasa* merupakan jenis makroalga yang paling banyak diberikan (masing-masing 50,57 dan 32,30% dari total konsumsi/individu; Gambar 2). Tingkat konsumsi pakan pada perlakuan diet ini tidak dianalisis lebih lanjut.

Tabel 4. Kisaran nilai parameter kualitas air selama percobaan. Grafik di samping data menunjukkan fluktuasi hasil pengukuran selama percobaan berlangsung.

Parameter	Waktu Pengukuran	
	Pagi-Siang	Malam
Oksigen Terlarut (mg/L)	4,37-6,24 	4,62-6,13 
Total Amonia Nitrogen (TAN) (mg/L)	0,02-0,095 	-
Temperatur (°C)	23,30-26,24 	24,99-25,84 
Salinitas (g/L)*	22,80-33,00 	30,86-32,74 
pH	7,94-8,44 	8,30-8,43 

\*Hari ke-38 *T. gratilla* terekspose air laut dengan salinitas 22,80 g/L selama sekitar 3 jam, sehingga percobaan dihentikan.



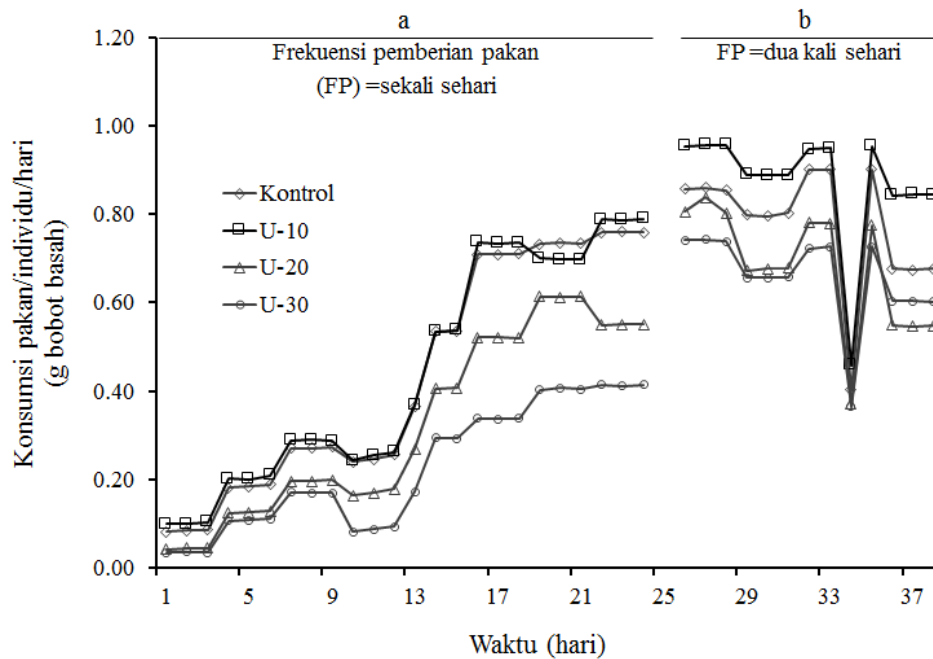
Gambar 2. Komposisi pemberian makroalga segar dan lamun pada *Tripneustes gratilla* ( $n=21$  individu/perlakuan) selama percobaan berlangsung.

Tanggap *T. gratilla* terhadap perlakuan diet pakan buatan dalam percobaan ini tergambar dari tingkat konsumsi pakan/individu/hari (g bb) dan total konsumsi pakan/individu (g bb). Tanpa bergantung pada jenis perlakuan diet, setiap harinya konsumsi pakan harian *T. gratilla* cenderung mengalami kenaikan (Gambar 3). Cook and Kelly (2007) melaporkan *Psammechinus miliaris* mengkonsumsi *Palmaria palmata* dua kali lebih banyak setelah hari ke-30. Konsumsi pakan yang lebih rendah di awal perlakuan diyakini dipengaruhi oleh ukuran saluran pencernaan (faring, esofagus, lambung, usus dan rektum) yang mengecil setelah dipuaskan. Frantzis (1992) dalam Fernandez and Boudouresque (2000) melaporkan bahwa konsumsi pakan bulu babi diatur oleh volume saluran pencernaan. Jauh sebelumnya, Lawrence *et al.* (1966) dalam Hammer *et al.* (2006a) telah mengindikasikan hal tersebut saat mempelajari perubahan ukuran saluran pencernaan *Strongylocentrotus purpuratus* pada musim tertentu dan saat dipuaskan, di mana ukuran saluran pencernaan yang

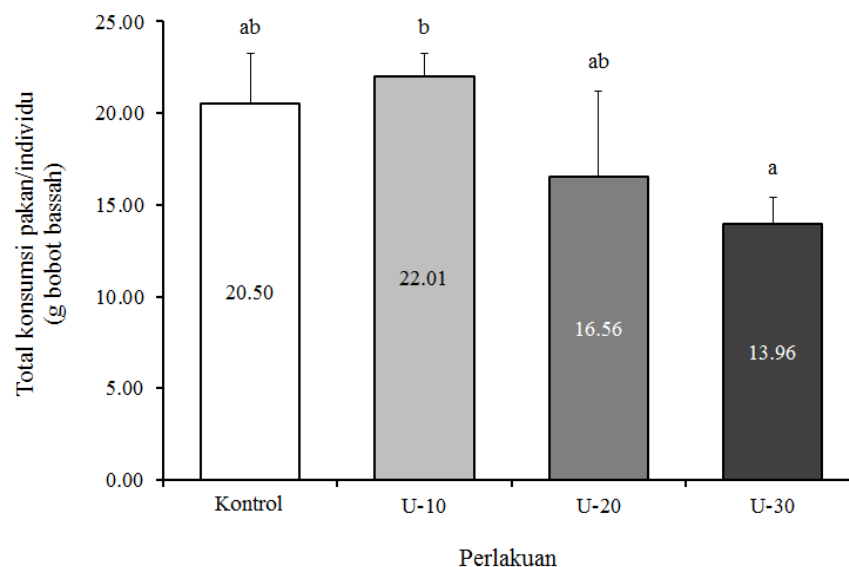
lebih kecil diyakini membatasi jumlah nutrien yang dapat disimpan.

Hasil percobaan menunjukkan pula bahwa frekuensi pemberian pakan mempengaruhi tingkat konsumsi pakan *T. gratilla*. Uji t sampel bebas antara frekuensi pemberian pakan satu kali dengan dua kali sehari menunjukkan perbedaan ( $p<0,025$ ). Frekuensi pemberian pakan dua kali sehari selama 13 hari (hari ke-26 sampai dengan 38) memberikan tingkat konsumsi pakan harian yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian pakan satu kali sehari selama 24 hari (hari ke-1 sampai dengan 24) (0,75 dan 0,36 g bb/individu/hari; Gambar 3). Secara keseluruhan, hasil percobaan menunjukkan perbedaan total konsumsi pakan yang signifikan antar kelompok perlakuan diet ( $p<0,05$ ). Perlakuan U-10 merupakan perlakuan diet dengan konsumsi pakan terbesar (22,01 g bb/individu). Meski hasil uji lanjut menunjukkan bahwa perlakuan U-10 tidak berbeda dengan perlakuan diet Kontrol ( $p>0,05$ ; Gambar 4).





Gambar 3. Konsumsi pakan harian *Tripneustes gratilla* dari empat jenis perlakuan diet ( $n=21$  individu/perlakuan).



Gambar 4. Total konsumsi pakan *Tripneustes gratilla* dari empat jenis perlakuan diet ( $n=21$  individu/perlakuan, rerata  $\pm$  simpangan baku Huruf yang sama di atas bar tidak berbeda nyata menurut uji *Tukey*' *HSD* ( $p>0,05$ )).

Terdapat tiga faktor yang diduga mempengaruhi perbedaan konsumsi pakan antar perlakuan diet pada percobaan ini. Hasil pengujian konsistensi pakan memperlihatkan meningkatnya dosis *U. reticulata* yang ditambahkan ke dalam pakan buatan menyebabkan kemampuan

pakan untuk mempertahankan formasinya di dalam air laut semakin berkurang. Perlakuan kontrol merupakan perlakuan dengan konsistensi pakan terbaik, sementara U-10 merupakan perlakuan diet dengan penambahan *U. reticulata* yang memiliki kemampuan mempertahankan

formasi di dalam air laut lebih lama dibandingkan U-20 dan U-30 (Gambar 5). Bulu babi regularia makan dengan cara 'grazing' sehingga pakan buatan yang segera rusak setelah dicelupkan ke dalam air laut tidak dapat dikonsumsi dengan cepat seperti pakan yang masih utuh.

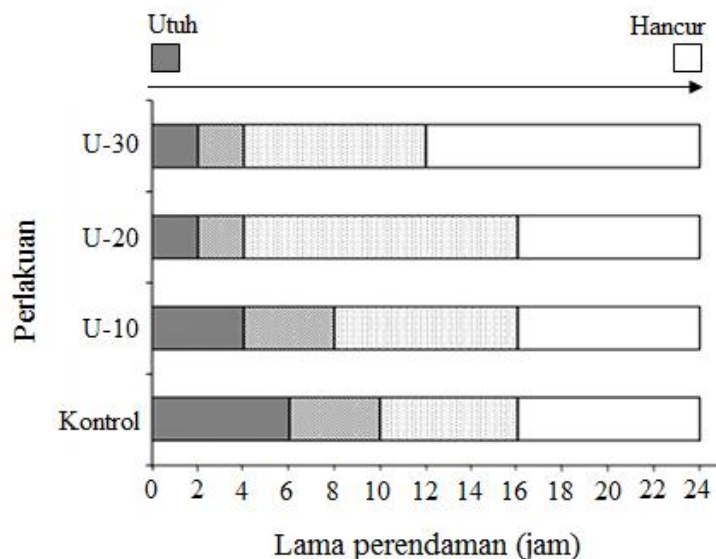
Di sisi lain, penambahan *U. reticulata* kering dengan dosis yang semakin meningkat tidak serta merta menambah tingkat konsumsi pakan *T. gratilla*. Selain menyebabkan konsistensi pakan menurun, penambahan *U. reticulata* dengan dosis terlalu besar potensial meningkatkan konsentrasi senyawa yang bertindak sebagai penghalang (*deterrent*) pakan, sehingga mempengaruhi proses penelanan makanan oleh bulu babi. Nelson (2003) dalam Daggett *et al.* (2005) melaporkan alga hijau *U. obscura* mengandung fenol dalam kadar yang relatif tinggi. Beberapa senyawa fenolik, misal fluorotannin pada konsentrasi tertentu akan bertindak sebagai penghalang pakan bagi *T. gratilla* (Steinberg and van Alena, 1992). Faktor lain yang diduga mengatur konsumsi pakan *T. gratilla* adalah

perbedaan umur antar individu bulu babi yang digunakan dalam percobaan. Hal serupa dilaporkan Cook and Kelly (2007) yang menyakini variasi tingkat konsumsi *Paracentrotus lividus* tidak semata dipengaruhi kandungan pakan perlakuan akan tetapi juga dikontrol oleh perbedaan umur antar individu bulu babi tersebut. Penelitian ini menggunakan bulu babi dari alam, sehingga besar kemungkinan umur antar individu bulu babi yang digunakan berbeda.

### 3.3. Kondisi Gonad

#### 3.3.1. Indeks Gonad (GI)

Evaluasi kondisi gonad di akhir percobaan menunjukkan bahwa pemberian pakan buatan terhadap individu *T. gratilla* selama 38 hari menghasilkan indeks gonad (GI) yang lebih tinggi dibandingkan GI individu bulu babi yang diberikan perlakuan diet berupa makroalga segar dan lamun (MS). Perlakuan diet U-10 dan Kontrol memiliki indeks gonad (GI) sebesar 5,02 dan 4,61%, signifikan lebih besar dibandingkan dengan GI bulu babi pada



Gambar 5. Konsistensi pakan perlakuan dalam media pemeliharaan. Arah gradasi warna dari gelap ke terang menunjukkan konsistensi pakan perlakuan dalam media pemeliharaan.

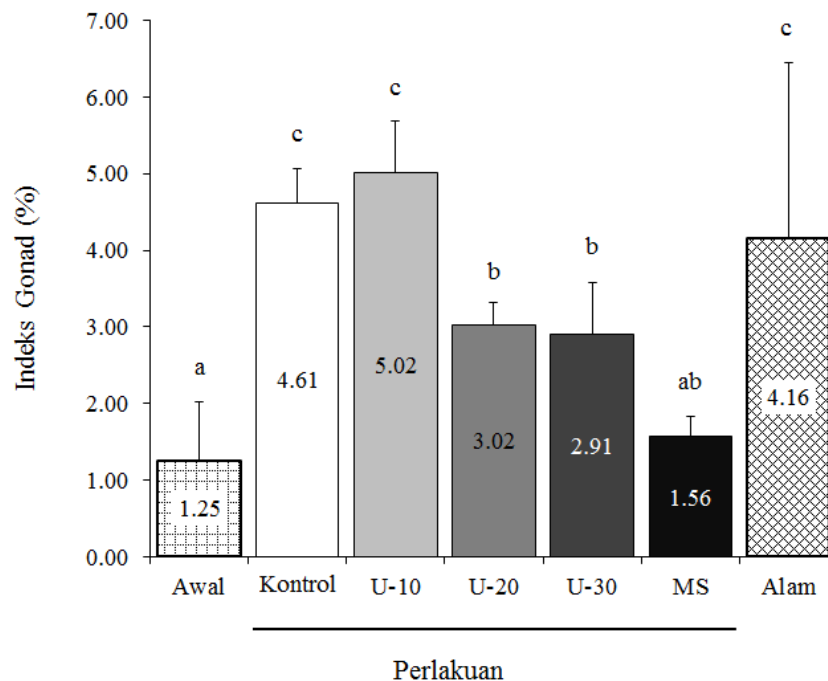
perlakuan diet lainnya ( $p < 0,05$ ). Namun hasil pengujian menunjukkan bahwa GI pada perlakuan diet U-10 dan Kontrol tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ; Gambar 6). Beberapa peneliti telah melaporkan produksi gonad bulu babi sangat baik ketika diberi pakan buatan (de Jong-Westman, 1993; Lawrence *et al.*, 1997; Fernandez and Boudouresque, 2000; Shpigel *et al.*, 2005; Hammer *et al.*, 2006b). Begitu pula dalam percobaan ini, bulu babi yang diberikan pakan buatan menghasilkan GI lebih tinggi dibandingkan bulu babi yang diberikan pakan alami. Hal ini karena proses absorpsi dan efisiensi asimilasi bulu babi terhadap pakan tinggi protein lebih baik dibandingkan dengan pakan rendah protein (Fernandez and Boudouresque, 2000).

Hasil percobaan menunjukkan bahwa perlakuan diet U-10 merupakan perlakuan diet dengan tingkat konsumsi pakan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan diet lainnya (Gambar 4).

Sementara, semua perlakuan diet (Kontrol, U-10, U-20 dan U-30) pada level protein yang sama (sekitar 31%). Hal ini menunjukkan bahwa tingkat retensi protein oleh individu bulu babi akan berdampak secara langsung terhadap GI. Hammer *et al.* (2006b) melaporkan penambahan bobot gonad *L. variegatus* bergantung pada dietari protein dan lama periode pemberian diet.

### 3.3.2. Komposisi Biokimia Gonad

Analisis proksimat terhadap komposisi protein, lipid dan kadar air gonad *T. gratilla* menunjukkan bahwa di akhir percobaan gonad bulu babi mengalami kenaikan kadar air dan protein serta penurunan lipid untuk semua perlakuan diet. Perlakuan diet dengan penambahan *U. reticulata* memiliki kadar air, protein dan lipid lebih tinggi daripada perlakuan diet kontrol. Meningkatnya dosis *U. reticulata* dalam pakan buatan berkorelasi positif dengan kadar air gonad.



Gambar 6. Indeks gonad *Tripneustes gratilla* dari sampel awal ( $n=5$  individu), lima jenis perlakuan diet ( $n=15$  individu/perlakuan) dan sampel dari alam ( $n=4$  individu, rerata $\pm$ simpangan baku). Huruf yang sama di atas bar tidak berbeda nyata menurut uji Tukey' HSD ( $p > 0,05$ ).

Tabel 5. Protein, lipid (% bobot kering, bk) dan kadar air gonad *Tripneustes gratilla* dari sampel awal, lima jenis perlakuan diet dan sampel alam.

Parameter	Awal	Perlakuan					Alam
		Kontrol	U-10	U-20	U-30	MS	
Protein (% bk)	35,98	38,19	50,71	55,02	43,73	42,83	70,16
Lipid (% bk)	38,78	16,42	26,35	26,12	28,71	17,94	23,56
Kadar air (%)	77,49	78,50	79,47	79,48	80,95	78,87	80,26

U-30 merupakan perlakuan diet dengan kadar air dan lipid tertinggi (80,95 dan 28,71%). Sementara itu, U-20 merupakan perlakuan diet dengan kadar protein tertinggi (55,02%; Tabel 5).

Tingginya komposisi lipid di awal percobaan diyakini terjadi karena saat dipuaskan bulu babi memperoleh energi untuk proses metabolisme terutama dari perombakan cadangan glikogen yang tersimpan di dalam *nutritive phagocytes* pada gonad melalui proses glikogenesis, yang mulanya diperuntukkan sebagai energi seluler siap pakai yang dibutuhkan untuk proses gametogenesis. Marsh and Watts (2007) dalam tinjauannya perihal metabolisme karbohidrat menyebutkan bahwa kandungan karbohidrat pada telur ekinoid rendah, ini mengindikasikan bahwa karbohidrat yang terkandung di dalam *nutritive phagocytes* tidak dialokasikan untuk perkembangan gamet, akan tetapi lebih diperuntukkan sebagai energi seluler siap pakai yang dibutuhkan untuk proses gametogenesis. Proses pengalokasian glikogen sebagai sumber energi untuk proses metabolisme oleh bulu babi saat dipuaskan melalui proses glikogenesis, terjadi pula pada mamalia yang dipuaskan. Berbeda dengan ikan yang terlebih dahulu merombak lipid dan protein melalui proses glukogenesis sebagai sumber energi saat dipuaskan.

Hasil analisis proksimat juga menunjukkan bahwa komposisi diet berpengaruh terhadap pertumbuhan dan komposisi biokimia gonad bulu babi, sebab gonad bertindak sebagai organ utama untuk menyimpan nutrisi pada

bulu babi (Walker 1982). Nutrien berupa protein dan lipid dalam jumlah besar diakumulasi di dalam gonad terutama untuk perkembangan gonad (Giese *et al.* 1959). Protein yang diakumulasi di dalam gonad berupa *major yolk protein* (MYP), di mana perubahan kuantitatif MYP dan komponen lainnya terjadi selama proses gametogenesis, ditunjukkan adanya hubungan terbalik antara ukuran sel gonad (NP) tempat cadangan nutrisi disimpan dengan jumlah sel gametogenik (Walker *et al.*, 2007). Karenanya dalam mengevaluasi status protein, lemak dan komponen lain yang terkandung dalam gonad harus mempertimbangkan pula fase reproduktif bulu babi, sebab hal tersebut sangat erat kaitannya.

### 3.3.3. Gambaran Histologi Gonad

Analisis histologis gonad *T. gratilla* atas sampel awal dan lima perlakuan diet menunjukkan kondisi reproduktif gonad yang beragam (fase I-IV), baik individu antar perlakuan diet yang berbeda ataupun individu dalam perlakuan diet yang sama. Berbeda dengan kondisi reproduktif individu bulu babi dari alam hanya terdiri atas fase III.

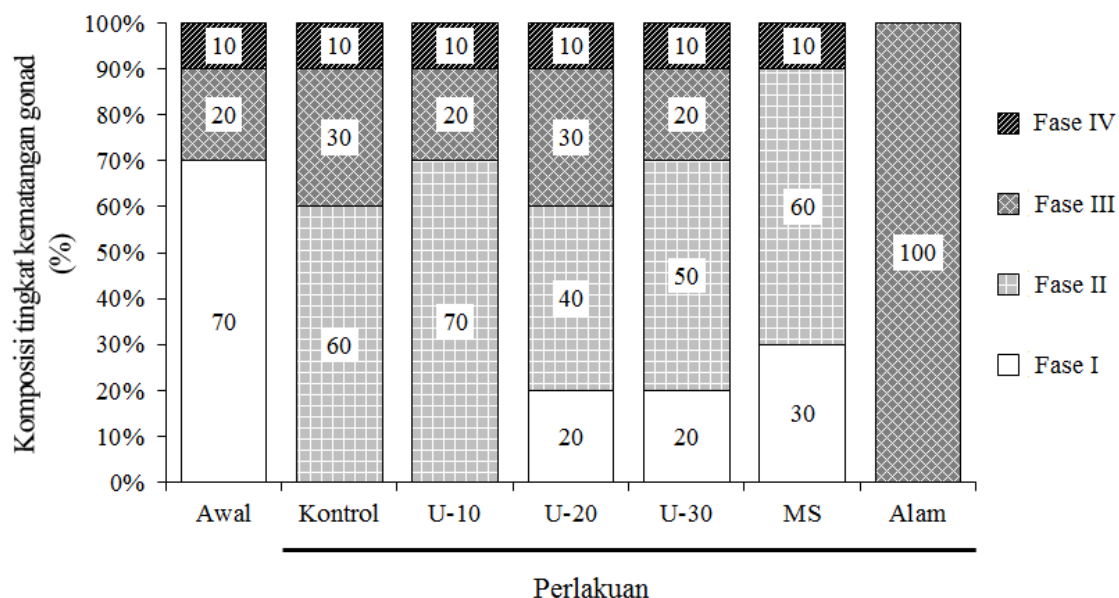
Tanpa membedakan individu jantan dan betina penafsiran hasil gambaran histologi memperlihatkan bahwa kondisi reproduktif gonad *T. gratilla* sedikit mengalami perubahan dibandingkan dengan sampel awal. Sebagian besar fase reproduktif bulu babi setelah percobaan berada pada fase II dan III. Perubahan fase II ditemukan pada perlakuan diet U-10 dan sedikit

penambahan pada fase III ditemukan pada perlakuan diet U-20 dan kontrol (Gambar 7). Hasil analisis proksimat menunjukkan terjadinya peningkatan kadar protein dan air diikuti menurunnya kadar lipid pada gonad bulu babi pada akhir percobaan untuk semua perlakuan diet (kontrol, U-10, U-20, U-30 dan MS). Hal tersebut menunjukkan bahwa pada semua perlakuan mulai mengalami proses gametogenesis dan pemanfaatan NP (fase II), tetapi dalam waktu bersamaan juga masih mengakumulasi tambahan nutrisi sebagaimana ditunjukkan oleh hasil analisis gambaran histologi gonad yang memperlihatkan beragamnya kondisi reproduktif gonad individu bulu babi. Pada fase II, MYP dan lipid serta komponen lain mulai dialokasikan untuk pembentukan ovum dan sperma. Persediaan MYP bulu babi jantan sebagian besar digunakan pada akhir spermatogenesis. Sementara pada bulu babi betina sebagian dari persediaan MYP

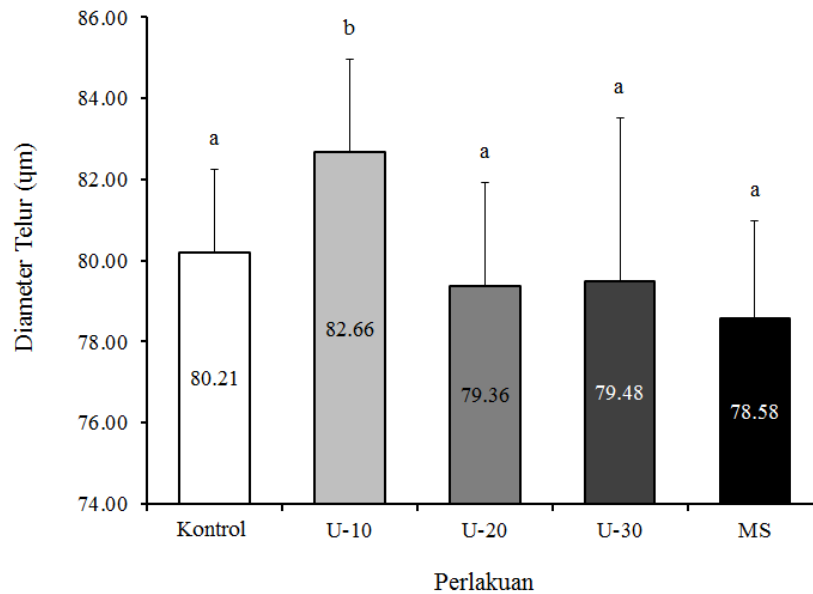
ditransfer dari ovum melalui endositosis *dynamic-dependent mechanism* (Brook and Wessel 2003, 2004, dalam Walker *et al.*, 2007) dan berakhir dalam bentuk butiran kuning telur (*yolk granules*) (Ozaki *et al.*, 1986, dalam Walker *et al.*, 2007).

### 3.3.4. Diameter Telur

Hasil pengukuran diameter telur *T. gratilla* di akhir percobaan menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan diet dalam percobaan ini ( $p < 0,05$ ). Uji lanjut memperlihatkan bahwa perlakuan diet U-10 menghasilkan telur dengan rerata diameter telur terbesar (82,66  $\mu\text{m}$ ) berbeda nyata dengan perlakuan diet lainnya ( $p < 0,05$ ; Gambar 8). Hal ini selaras dengan akumulasi nutrisi melalui konsumsi pakan oleh bulu babi yang lebih besar pada perlakuan diet U-10 dibandingkan dengan perlakuan diet lainnya (lihat Gambar 4). George *et al.* (1990) menyatakan ukuran dan kandungan



Gambar 7. Fase reproduktif *Tripneustes gratilla* ('fase I= *inter-gametogenesis* dan NP *phagocytosis*', fase II '*pre-gametogenesis and NP renewal*', 'fase III= *gametogenesis and NP utilisation*', 'fase IV= *end of gametogenesis, NP exhaustion and spawning*' pada sampel awal ( $n=10$  individu), lima jenis perlakuan diet ( $n=10$  individu/perlakuan) dan sampel dari alam ( $n=4$  individu).



Gambar 8. Diameter telur *Tripneustes gratilla* dari lima jenis perlakuan diet ( $n=2$  individu/perlakuan, 80 telur/perlakuan, rerata $\pm$ simpangan baku). Huruf yang sama di atas bar tidak berbeda nyata menurut uji *Tukey' HSD* ( $p>0,05$ ).

kimia telur ekinodermata bervariasi tidak hanya antar individu dari populasi yang berbeda tetapi juga antar individu dari populasi yang sama. Vaitilingon *et al.* (2005) melaporkan ukuran diameter telur *T. gratilla* berkisar 85-90  $\mu\text{m}$ , bergantung pada temperatur, ketersediaan makanan dan lama pemeliharaan.

#### IV. KESIMPULAN

Penambahan *Ulva reticulata* kering ke dalam pakan buatan sebesar 10% dari bobot pakan merupakan dosis optimal yang direkomendasikan. Perlakuan tersebut terbukti signifikan meningkatkan konsumsi pakan buatan, indeks gonad dan diameter telur akan tetapi belum mampu menyeragamkan komposisi fase reproduktif gonad *Tripneustes gratilla*.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Kementerian Negara Riset dan Teknologi

dan P2LD, LIPI, Ambon yang memberikan dana bagi penelitian ini. Terima kasih kami sampaikan pula kepada Prof. Riset. Sulistijo dan Prof. Riset. Gono Semiadi atas saran dan masukannya.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Agatsuma, Y., Y. Sakai, and K. Tajima. 2010. Recent advances in sea urchin aquaculture in Japan. *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada*, 108(1):4-9.
- Andrew, N., Y. Agatsuma, E. Ballesteros, A.G. Bazhin, E.P. Creaser, D.K.A. Barnes, L.W. Botsford, A. Bradbury, A. Cambell, J.D. Dixon, S. Einarsson, P.K. Gerring, K. Hebert, M. Hunter, S.B. Hur, C.R. Johnson, M.A. Juinio-Menez, P. Kalvass, R.J. Miller, C.A. Moreno, J.S. Palleiro, D. Rivas, S.M.L. Robinson, S.C. Schroeter, R.S. Steneck, R.L. Vadas, D.A. Woodby, and Z. Xiaoqi. 2002. Status and management of world

- sea urchin fisheries. *Oceanography and Marine Biologi: an Annual Review*, 40:343-425.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1980. Official methods of analysis. AOAC Inc. Virginia. 1018p.
- Aziz, A. 1993. Beberapa catatan tentang perikanan bulu babi. *Oseana*, 18(2):65-75.
- Barker, M.F. 2010. Recent advances in sea urchin aquaculture in New Zealand and Australia. *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada*, 108(1):10-17.
- Chasanah, E. dan R. Andamari. 1997. Komposisi kimia, profil asam dan asam amino gonad bulubabi *Tripneustes gratilla* dan *Salmacis* sp dan potensi pengembangannya. *Dalam: Prosiding Seminar Kelautan LIPI-UNHAS*, Ambon, 4-6 Jul 1997. Hlm.:269-274.
- Cook, E.J. and M.S. Kelly. 2007. Effect of variation in the protein value of the red macroalga *Palmaria palmata* on the feeding, growth and gonad composition of the sea urchins *Psammechinus miliaris* and *Paracentrotus lividus* (Echinodermata). *Aquaculture*, 270:207-217.
- Cyrus, M.D., J.J. Bolton, D.W. Lourens, and B.M. Macey. 2012. The development of a formulated feed containing *Ulva* (Chlorophyta) to promote rapid growth and enhanced production of high quality roe in the sea urchin *Tripneustes gratilla* (Linnaeus). *Aquaculture Research*, 1-18. doi: 10.1111/j.1365-2109.2012.03219.x
- Daggett, T.L., C.M. Pearce, M. Tingley, S.M.C. Robinson, and T. Chopin. 2004. Effect of prepared and macroalgal diets and seed stock source on somatic growth of juvenile green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Aquaculture*, 244:263-281.
- De Jong Westman, M.M. 1993. The effect of artificial diet on gonad size, egg size, egg quality, and larva vitality in green sea urchin. Thesis. Department of Zoology, the University of British Columbia. 82p.
- Dworjanyn, S.A., I. Pirozzi, and W. Liu. 2007. The effect of the addition of algae feeding stimulants to artificial diets for the sea urchin *Tripneustes gratilla*. *Aquaculture*, 273:624-633.
- Fernandez, C. and C.F. Boudouresque. 2000. Nutrition of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) fed different artificial food. *Marine Ecology Progress Series*, 204:131-141.
- Folch, J, M. Lees, and G.H. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. of Biological Chemistry*, 226:497-509.
- George, S.B., C. Cellario, and L. Fenaux. 1990. Population differences in egg quality *Arbacia lixula*. Proximate composition of eggs and larval development. *J. of Experimental Marine Biology and Ecology*, 141:107-118.
- Giese, A.C, L. Greenfield, H. Huang, A. Farmanfarmaian, R. Boolootian, and R. Lasker. 1959. Organic productivity in the reproductive cycle of the purple sea urchin. *The Biological Bulletin*, 116:49-58.
- Hammer, H., B. Hammer, S. Watts, A. Lawrence, and J. Lawrence. 2006a. The effect of dietary protein and carbohydrate concentration on the biochemical composition and gametogenic condition of the sea urchin *Lytechinus variegatus*. *J. of Experimental Marine Biology and Ecology*, 334:109-121.

- Hammer. H., S. Watts, A. Lawrence, J. Lawrence, and R. Desmond. 2006b. The effect of dietary protein on consumption, survival, growth and production of the sea urchin *Lytechinus variegates*. *Aquaculture*, 254:483-495.
- Hewitson T.D., B. Wigg, and G.J. Becker. 2010. Tissue preparation for histochemistry: fixation, embedding and antigen retrieval for light microscopy. In: Hewitson T.D. and I.A. Daroy (eds.). *Method in Molecular Biology: Histology Protocols*. Humana Press, Springer Sci. New York. 3-8pp.
- Keesing J.K. and K.C. Hall. 1998. Review of harvests and status of world sea urchin fisheries points to opportunities for aquaculture. *J. of Shellfish Research*, 17:1597-1604.
- Kelly, M.S. and J. Chamberlain. 2010. Recent advances in sea urchin aquaculture and enhancement in Scotland and Ireland. *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada*, 108(1):23-29.
- Klinger, T.S. and J.M. Lawrence. 1984. Phagostimulation of *Lytechinus variegatus* (Lamarck) (Echinodermata: Echinoidea). *Marine Behaviour and Physiology*, 11: 49-67.
- Lawrence, J.M. 2007. Edible sea urchins: use and life-history strategies. In: Lawrence J.M. (ed). *Edible Sea Urchin: Biology and Ecology*, (2<sup>nd</sup> Ed.). Elsevier. Oxford. 1-9pp.
- Lawrence, J.M., S. Olave, R. Otaiza, A.L. Lawrence, and E. Bustos. 1997. Enhancement of gonad production in the sea urchin *Loxechinus albus* in Chile fed extruded feeds. *J. of the World Aquaculture Society*, 28:91-96.
- Siikavuopio, S.I., T. Dale, A. Foss, and A. Mortensen. 2004. Effect of chronic ammonia exposure on gonad growth and survival in green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Comparative Biochemistry Physiology*, 39A: 553-581.
- Marsh, A.G. and S.A. Watts. 2007. Biochemical and energy requirements of gonad development. In: Lawrence J.M. (ed). *Edible sea urchin: biology and ecology*, (2<sup>nd</sup> Ed.). Elsevier. Oxford. 35-69pp.
- McBride, S.C, W.D. Pinnix, J.M. Lawrence, A.L. Lawrence, and T.M. Mulligan. 1997. The effect of temperature on production of gonads by the sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* fed natural and prepared diets. *J. of the World Aquaculture Society*, 28:357-365.
- McClintock, J.B., T.S. Klinger, and J.M. Lawrence. 1982. Feeding preferences of echinoids for plant and animal food models. *Bulletin of Marine Science*, 32(1): 365-369.
- [NRC] National Research Council. 1977. Nutrient requirements of warm water fishes. National Academy of Sciences. Washington DC. 78p.
- Robinson, S.M.C., J.D. Catell, and E.J. Kennedy. 2002. Developing suitable colour in the gonads of cultured green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Aquaculture*, 206:289-303.
- Sakata, K., K. Kato, K. Ina, and Y. Machiguchi. 1989. Glycerolipids as potent feeding stimulants for the sea urchin, *Strongylocentrotus intermedius*. *Agricultural Biology and Chemistry*, 53:1457-1459.
- Shpigel, M., S. Marciano, S.C. McBride, and I. Lupatsch. 2004. The effect of photoperiod and temperature on the reproduction of the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture*, 232:343-355.



- Shpigel, M., S.C. McBride, S. Marciano, S. Ron, and A. Ben-Amotz. 2005. Improving gonad colour and somatic index in the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture*, 245:101–109.
- chiensis*. *Aquaculture*, 242:313–320.
- Siikavuopio, S.I., T. Dale, and Mortensen A. 2007. The effect of stocking density on gonad growth, survival and feed intake of adult green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Aquaculture*, 262:78–85.
- Solozarno, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnology and Oceanography*, 14:799–801.
- Sonu, S.C. 2003. Japanese sea urchin market. NOAA Technical Memorandum. NOAA-TM-NMFS-SWR, 040:1–34.
- Steinberg, P.D. and I. van Altena. 1992. Tolerance of marine invertebrate herbivores to brown algal phlorotannins in temperate Australasia. *Ecological Monographs*, 62: 189–222.
- Tuwo, A. dan U. Pelu. 1997. Biologi reproduksi bulubabi *Tripneustes gratilla*. Dalam: Prosiding Seminar Kelautan LIPI-UNHAS, Ambon, 4–6 Jul 1997. Hlm.:1–4.
- Vaitilingon, D., R. Rasolofonirina, and M. Jangoux. 2005. Reproductive cycle of edible echinoderms from the Southwestern Indian Ocean. I. *Tripneustes gratilla* L (Echinoidea, Echinodermatata). *Western Indian Ocean J. of Marine Science*, 4(1):47–60.
- Walker, C. 1982. Nutrition of gametes. In: Jangoux, M, J. M. Lawrence and A.A. Balkema (ed). *Echinoderm Nutrition*. Rotterdam. 449–466pp.
- Walker, C.W., T. Unuma, and M.P. Lesser. 2007. Gametogenesis and reproduction of sea urchins. In: Lawrence J.M. (ed.). *Edible Sea Urchin: Biology and Ecology*, (2<sup>nd</sup> Ed.). Elsevier. Oxford. 11–33pp.
- Diterima* : 9 Januari 2014  
*Direview* : 11 April 2014  
*Disetujui* : 2 Mei 2014

